

## 7. *In vivo* Studien

Um die Funktionsweise der Tiefenauflösung von Absorptionsänderungen zu demonstrieren und ihre Relevanz für NIRS-Messungen am Kopf aufzuzeigen, wurden Messungen an gesunden Probanden durchgeführt.

Eine funktionelle Studie zur Untersuchung der vaskulären Antwort nach einer visuellen Stimulation wird im ersten Abschnitt dieses Kapitels vorgestellt. Ziel dieser speziellen Studie ist es, den Zusammenhang zwischen der Änderung des Blutvolumens bzw. der Blutoxygenierung und der neuronalen Aktivität zu untersuchen. Für diese Studie wurde keine zeitaufgelöste Messtechnik verwendet; sie demonstriert aber gut den Stand der Technik der NIRS am Kopf.

In einer Vorstudie zum zeitaufgelösten Messplatz wurden mit mehreren Probanden motorische Stimulationen und Valsalva-Manöver durchgeführt (Abschnitt 7.2). Der motorischen Stimulation folgen vergleichsweise kleine Absorptionsänderungen. Die damit verknüpfte kleine Änderung der zeitabhängigen Attenuation besitzt ein geringes Signal-Rausch-Verhältnis. Trotzdem war es möglich eine Tiefenauflösung zu erzielen.

Die dritte Studie in diesem Kapitel demonstriert in besonderem Maße die Notwendigkeit einer Tiefenauflösung von Absorptionsänderungen. Hier wurde dem Probanden ein Farbstoff gespritzt, um aus der zeitlichen Änderung der Absorption im Gehirn auf die 'Güte' des zerebralen Blutflusses zu schließen. Es hat sich gezeigt, dass hierbei ein Trennen der Absorptionsänderungen in den extra- und intrazerebralen Kompartimenten notwendig ist. Mit der Hyperoxygenierung (100% Sauerstoff im Atemgas) wird in Abschnitt 7.4 eine weitere Messung mit dem zeitaufgelösten Messplatz vorgestellt.

Im letzten Abschnitt wird die Möglichkeit einer lokalen Pulsoxymetrie am

## 7. *In vivo* Studien

Kopf erörtert. Hiermit wird eine potentielle klinische Anwendung aufgezeigt die aber noch weitere Entwicklungen fordert.

Alle Probandenmessungen wurde von einem Arzt aus der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Villringer von der Charité untersttzt und waren durch die dortige Ethikkommission genehmigt.

### 7.1. Visuelle Stimulation – Auswertung mit DPF-Konzept

Wenige Sekunden nach dem Auftreten von neuronaler Aktivität wird mit der NIRS folgendes beobachtet: In dem aktivierten Gehirnareal nimmt die Konzentration von Oxyhämoglobin zu und die von Desoxyhämoglobin ab [1, 2, 3, 4]. Dieser Befund überrascht zunächst. Denn aufgrund der neuronalen Aktivität erwartet man einen erhöhten Sauerstoffbedarf, der zu einem umgekehrten Bild - einer Umwandlung von Oxy- in Desoxyhämoglobin führen müsste. Der experimentelle Befund wird wie folgt erklärt: Die Konzentrationsänderung des Hämoglobins ist bedingt durch den Anstieg des zerebralen Blutflusses (man spricht deswegen auch von Blutflussantwort). Das hochgesättigte arterielle Blut fließt vermehrt in die Kapillaren und die Venen und spült das weniger gesättigte Blut aus dem Beobachtungsvolumen<sup>1</sup> [2].

Neuronale Aktivität kann durch einen Stimulus getriggert werden. In dieser Studie wurde den Probanden für die Dauer von wenigen Sekunden ein visueller Reiz in Form eines reversierenden Schachbrettmusters auf einem Bildschirm gezeigt. Die Umschaltfrequenz war 4 Hz. Die Optoden wurden über dem visuellen Kortex angebracht. Für die NIRS-Messung wurde der spektroskopische Messplatz an der Charité (s. Abschnitt 3.2) verwendet. Weitere Details der Studie befinden sich in Tabelle 7.1.

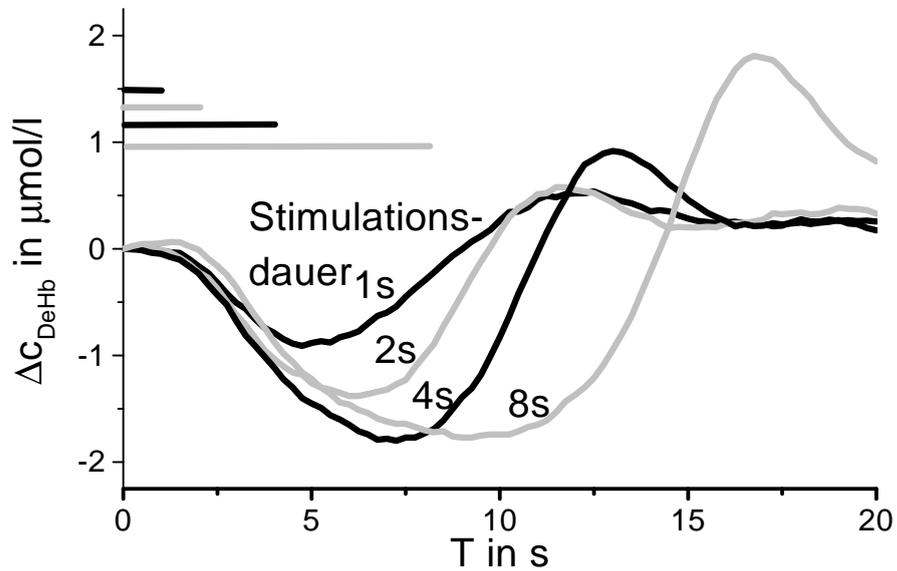
Die an einem Probanden ermittelten Hämoglobin-Konzentrationsänderungen sind in Abbildung 7.1 präsentiert. Jede der dargestellten Messkurven entspricht einer ereignisbezogenen Mittelung aus vier Einzelmessungen. Jeder Stimulation folgt ein Abfall der Desoxyhämoglobin-Konzentration nach zirka

---

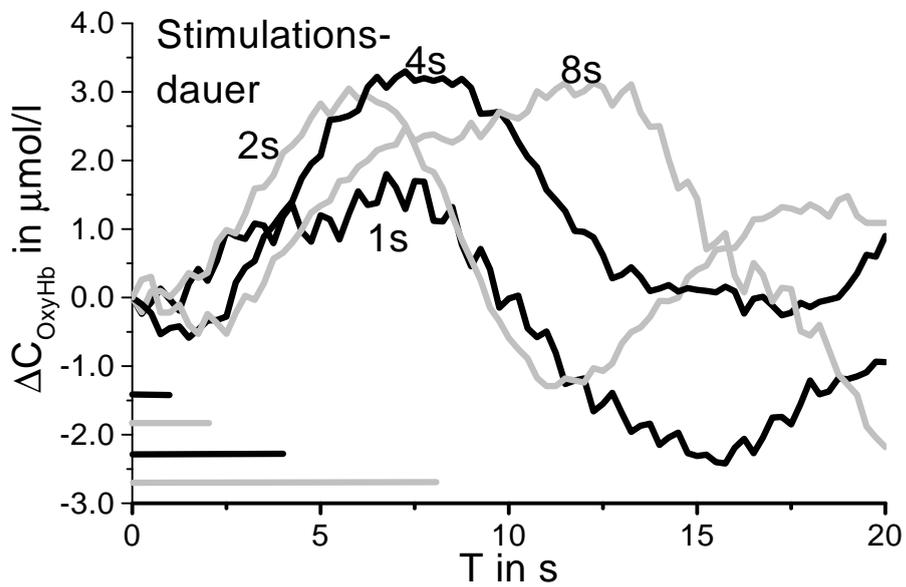
<sup>1</sup>Es existieren mehrere durch Formeln beschriebene Modelle, mit denen das Wechselspiel zwischen dem erhöhtem Sauerstoffbedarf, der Flussänderung und der resultierenden Hämoglobinkonzentrationsänderungen beschrieben wird [5, 6].

7.1. Visuelle Stimulation – Auswertung mit DPF-Konzept

a)



b)



**Abb. 7.1.:** Änderung der a) Desoxy- und b) Oxyhämoglobin-Konzentration nach einer visuellen Stimulation von 1, 2, 4 und 8 Sekunden. Die Studie wurde von F. Thomas an der Charité durchgeführt.

## 7. *In vivo* Studien

Studie:	<b>Visuelle Stimulation</b>
Ziel:	Beispiel für Studie, in der DPF-Konzept angewendet wird
Probanden:	3 gesunde Probanden
Technik:	Quelle: Halogen-Lampe (s. 3.2) Detektor: Spektrometer mit CCD-Chip
Position:	über visuellem Kortex
Protokoll:	1, 2, 4, 8 s Stimulation gefolgt von 30 s Ruhephase Jede Stimulusdauer wird 4 mal präsentiert.
Auswertung:	DPF-Konzept, DPF aus [7] Hb-Spektren aus [8]
Bemerkung:	Studie wurde von F. Thomas an der Charité durchgeführt und vom Autor in technischen Fragen unterstützt [9] [10].

**Tab. 7.1.:** Die Details der Messung zur visuellen Stimulation

2s. Die maximale Konzentrationsänderung befindet sich, je nach Stimulationsdauer, bei 5 bis 10 s nach dem Stimulationsanfang. Die Kurven sind gut reproduzierbar. Dies trifft nicht für die Änderung der Oxyhämoglobin-Konzentration in Abbildung 7.1 b) zu. Trotz des ereignisbezogenen Mittels ist der Effekt des Herzschlages (ca. 1 Hz) noch zu sehen. Die ermittelten Oxyhämoglobin-Konzentrationsänderungen sind weiterhin durch andere, niederfrequente Oszillationen (Atmung und 0.1 Hz-Oszillationen) gestört.

Die zu erwartenden pathologischen vaskulären Veränderungen, die im klinischen Alltag durch die NIRS diagnostiziert werden könnten, sind größer als die Änderungen nach einer funktionellen Stimulation. Insofern sind die funktionellen Studien an gesunden Probanden auch ein Test für potentielle klinische Anwendungen bei einem schlechten Signal-zu-Rausch-Verhältnis. Untypisch für die potentiellen klinischen Anwendungen ist jedoch die Messbedingung: Während der Studie sitzt der Proband in einem EEG-Sessel und verhält sich ruhig. Hiermit werden extrazerebrale Absorptionsänderungen vermieden. Bei zukünftigen klinischen Untersuchungen am Krankenbett kann dies nicht gewährleistet werden. Somit ist für eine klinische Anwendung

die Tiefenauflösung von Absorptionsänderungen notwendig.

## 7.2. Tiefenauflösung bei funktioneller Stimulation und Valsalva-Manöver

Im folgenden werden zwei Vorstudien zum zeitaufgelösten klinischen Messplatz vorgestellt. Die beiden unterschiedlichen Studien sind in einem Abschnitt zusammengefasst, da so ein Vergleich von Messungen bei im wesentlichen extrazerebralen (Valsalva-Manöver) und intrazerebralen Absorptionsänderung möglich ist. In jeder der Studien wurden die Messungen hintereinander bei drei Wellenlängen durchgeführt, so dass eine Auswertung basierend auf Oxygenierungsänderungen hier zu ungenau wäre. Eine der verwendeten Wellenlängen lag mit 805 nm dicht am isobestischen Punkt von Hämoglobin (s. Abschnitt 5.3), so dass über

$$\Delta\mu_a(805 \text{ nm}) = \ln(10) \Delta c_{Hb} \varepsilon_{DeHb}(805 \text{ nm}) \quad (7.1)$$

eine Aussage über eine Änderung der Gesamthämoglobin-Konzentration  $c_{Hb}$  möglich ist.

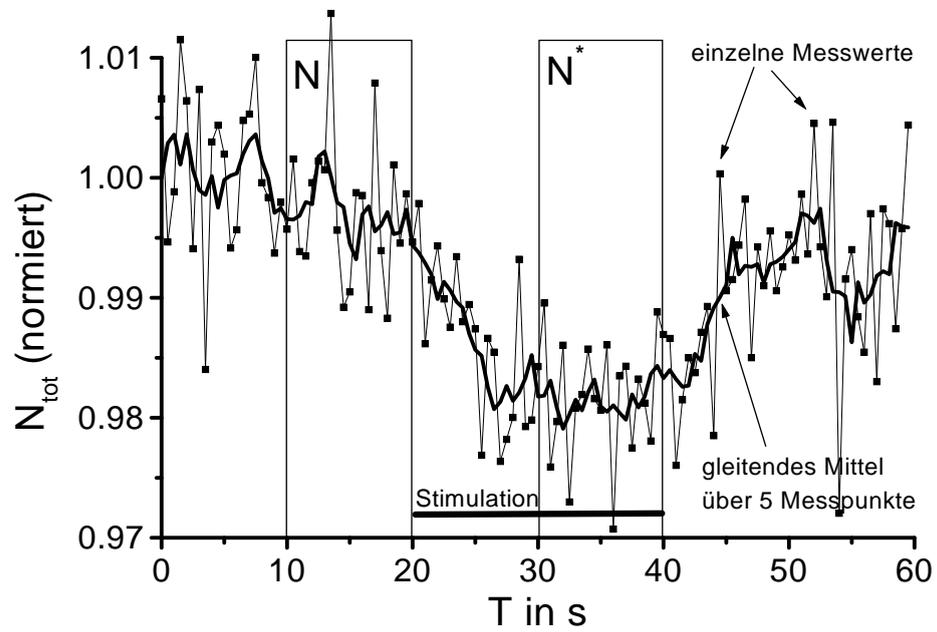
Das Protokoll der motorischen Stimulation war ähnlich dem in [3] beschrieben. Die Optoden wurden anhand eines 10-20 Lokalisierungssystems<sup>2</sup> über dem motorischen Kortex platziert. Während der Messzeit  $T$  ruhte der Proband für zwanzig Sekunden, dann bewegte er für zwanzig Sekunden die Finger seiner rechten Hand, um dann wieder zwanzig Sekunden zu ruhen. Diese Stimulation wurde fünf mal wiederholt. Abbildung 7.2 a) zeigt den Zeitverlauf der normierten gesamten Photonenzahl, die über die fünf Durchgänge ereignisbezogen gemittelt wurde. Während der Stimulation reduzierte sich die Zahl der transmittierten Photonen um ca. 1.5 %.

Mit dem DPF-Konzept kann (4.15) und die Extinktionskoeffizienten bei 805 nm angewendet werden, um die Änderung der Hämoglobinkonzentration zu berechnen. Für eine Reduktion der gesamten Photonenzahl von 1.5

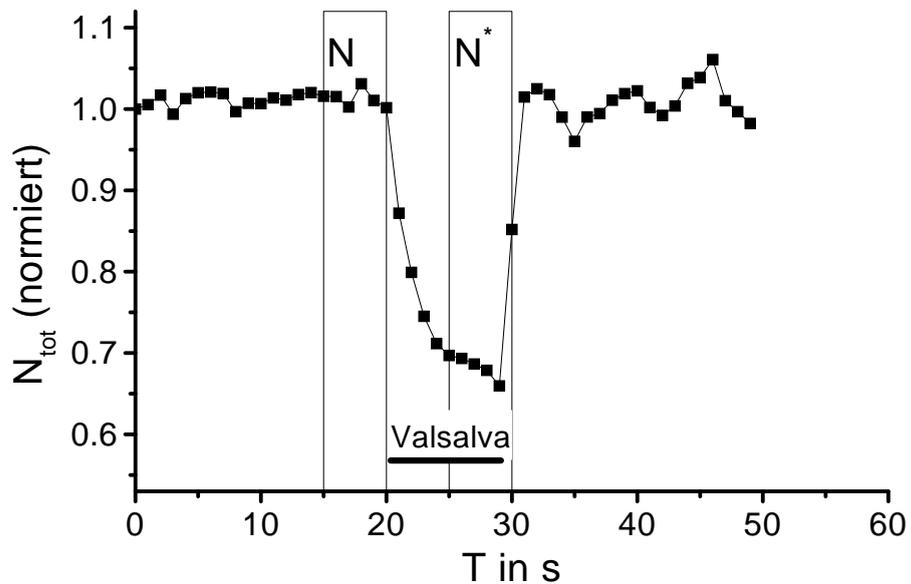
<sup>2</sup>Das 10-20 System ordnet der Kopfoberfläche anhand von vier Punkten (Nasion, Inion, linkes und rechtes Ohr ) ein Netz von äquidistanten Punkten zu, anhand dessen zerebrale Strukturen grob lokalisiert werden können

7. *In vivo* Studien

a)



b)



**Abb. 7.2.:** Änderung der gesamten Photonenzahl bei 805 nm durch a) eine motorische Stimulation und b) ein Valsalva-Manöver.

## 7.2. Tiefenauflösung bei funktioneller Stimulation

Studie:	<b>Motorische Stimulation/Valsava-Manöver</b>
Ziel:	Der Algorithmus zur Trennung der extrazerebralen und intrazerebralen NIRS-Signale wird getestet. Bei einer motorischen Stimulation /einem Valsalva-Manöver sollte im wesentlichen eine intrazerebrale/extrazerebrale Absorptionsänderung detektierbar sein.
Probanden:	5/3 gesunde erwachsene Probanden
Technik:	Quelle: TiSa-Laser Detektor: MCP-PMT
Optode:	über primärmotorischem Kortex
Protokoll:	20s Ruhe, 20s Fingerbewegung contra oder ipsilateral zur Messposition, 20s Ruhe, insgesamt 5 mal /20 s Valsalva-Manöver, sonst Ruhe
Ergebnis:	Hypothese bestätigt

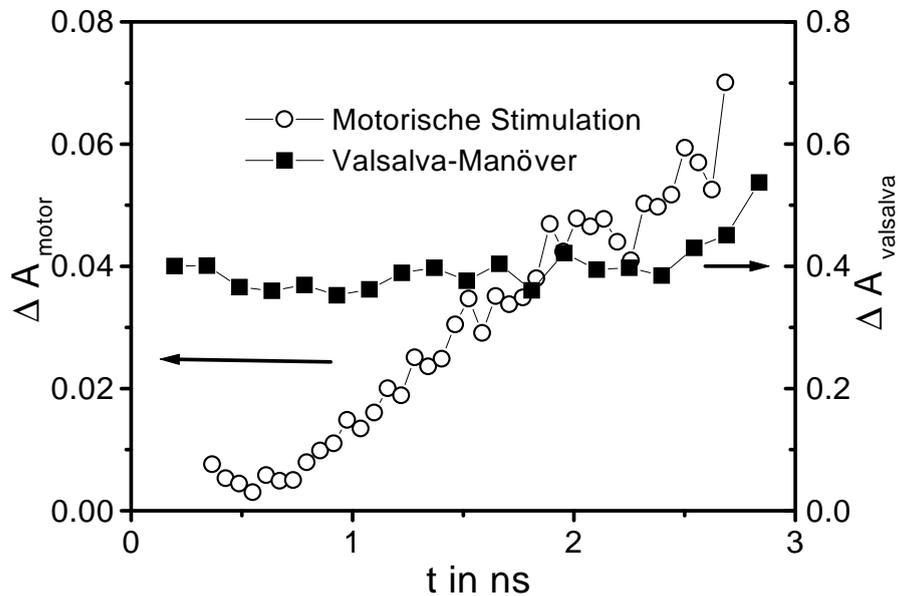
**Tab. 7.2.:** Die Details der Vorstudie zum klinischen Messplatz mit einer funktionellen Stimulation/einem Valsalva-Manöver.

% und der ermittelten mittleren Flugzeit von  $\langle t \rangle = 0.73$  ns erhält man eine Konzentrationsänderung von  $\Delta c_{Hb} = 0.46 \mu\text{mol l}^{-1}$ .

Drei Probanden wurden aufgefordert ein Valsalva-Manöver durchzuführen. Der Proband holt hierzu tief Luft und presst. Hierbei drückt die Lunge gegen das Herz und reduziert den venösen Rückfluss zum Herz. Wenn das Manöver korrekt durchgeführt wird, läuft das Gesicht des Probanden rot an. Abbildung 7.2 b) zeigt den Zeitverlauf der normierten gesamten Photonenzahl während eines Valsava-Manövers an einem Probanden. Die große Absorptionsänderung führt zu einer Reduktion der Photonenzahl von ungefähr 30 %.

Für beide Experimente wurden die Laufzeitverteilungen so zusammengefasst, dass eine mittlere Verteilung in der Ruhephase  $N_{mess,k}$  und eine mittlere Verteilung in der Phase der Absorptionsänderung  $N_{mess,k}^*$  gebildet wird. Beide Phasen sind in Abbildung 7.2 durch schwarze Rahmen gekennzeichnet. Die zeitabhängige Änderung der Attenuation  $\Delta A_k = -\ln(N_{mess,k}^*/N_{mess,k})$  ist in Abbildung 7.3 dargestellt. Im Falle des Valsalva-Manövers sind die späten und frühen Photonen gleich betroffen. Dieses Ergebnis ist erklärbar durch ei-

## 7. In vivo Studien



**Abb. 7.3.:** Die Änderung der zeitabhängigen Attenuation für die in Abbildung 7.2 eingezeichneten Ruhe ( $N$ ) und Stimulationsphasen ( $N^*$ ) für die motorische Stimulation und das Valsalvamanöver.

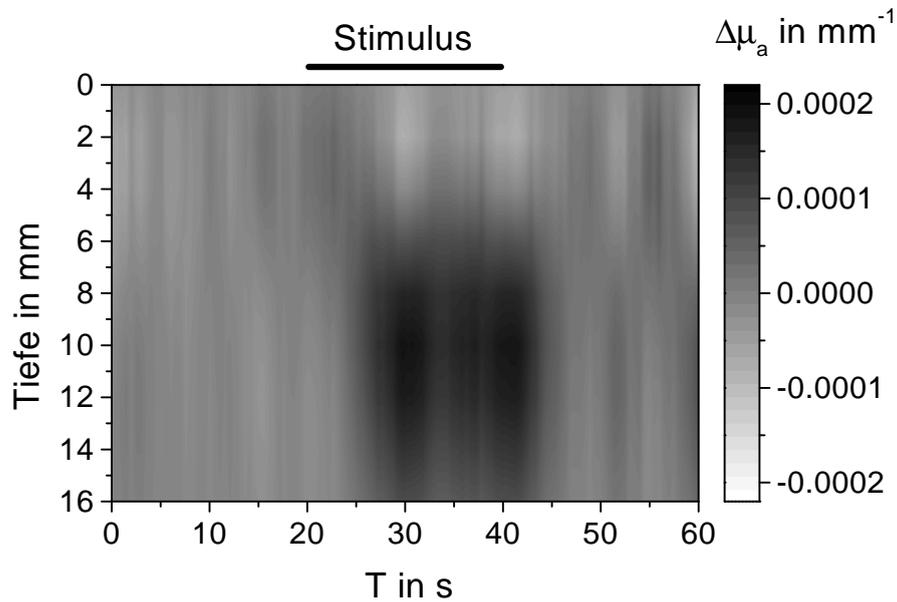
ne Absorptionsänderung in der oberen Schicht, wahrscheinlich im Skalp. Im Falle der motorischen Stimulation sind nur die späten Photonen von der Absorptionsänderung betroffen; ein Hinweis darauf, dass die Absorptionsänderung in der Tiefe des Kopfes stattgefunden hat. Dies ist in Übereinstimmung mit einer im Gehirn lokalisierten Absorptionsänderung durch eine Änderung der Hämoglobinkonzentration.

Um dieses qualitative Argument zu stützen, werden die Laufzeitverteilungen, die während der motorischen Stimulation und dem Valsalva-Manöver gemessen wurden, über eine Hauptwertzerlegung (SVD) analysiert. Es wurde das homogene Modell aus Kapitel 4 ( $\mu'_s = 1.0 \text{ mm}^{-1}$  und  $\mu_a = 0.01 \text{ mm}^{-1}$ ) mit 15 Schichten verwendet, um die Absorptionsänderung tiefenaufgelöst zu bestimmen.

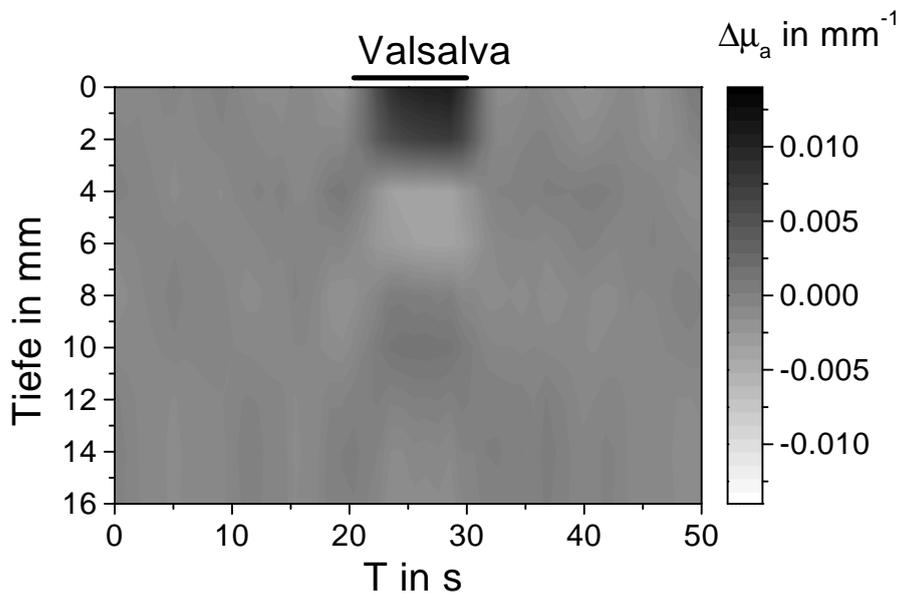
Bei der Analyse wurden so viel Hauptwerte verwendet, wie nötig waren, um einen stationären  $\chi^2(T)$ -Wert zu erhalten. Im Falle der motorischen Stimulation wurden hierfür zwei Hauptwerte benötigt. Abbildung 7.4 a) zeigt die tiefenaufgelösten Absorptionsänderungen in grauskalierten Bild Die Absorptionsänderung im Gehirn befindet sich ungefähr 10 mm unterhalb der

## 7.2. Tiefenauflösung bei funktioneller Stimulation

a)



b)



**Abb. 7.4.:** Tiefenaufgelöste Absorptionsänderung während a) einer motorischen Stimulation und b) einem Valsalva-Manöver in einem graukodierten Graphen. Es gibt eine Absorptionsänderung in der Tiefe des Kopfes ( $z \geq 7$  mm) für die motorische Stimulation im Gegensatz zu der Absorptionsänderung im Skalp ( $z \leq 3$  mm) beim Valsalva-Manöver.

## 7. *In vivo* Studien

Kopfoberfläche. Dies erscheint sinnvoll, berücksichtigt man die Dicke des Skalps und des Schädelknochens. Die maximale Absorptionsänderung ist  $\Delta\mu_a = 2.2 \cdot 10^{-4} \text{mm}^{-1}$ , was eine Änderung der Hämoglobinkonzentration von  $\Delta c_{Hb} = 1.1 \mu\text{mol l}^{-1}$  entspricht. Somit übersteigt der so ermittelte Wert das Ergebnis des DPF-Konzepts um fast einen Faktor 4.

Dieselbe Analyse wurde mit den Daten des Valsalva-Manövers wiederholt. Es wurden vier Hauptwerte verwendet, um einen zeitunabhängigen  $\chi^2$ -Wert zu erhalten. Die ermittelten Absorptionsänderungen sind im wesentlichen in den oberen Schichten, dem Skalp, gegeben. Dieses Ergebnis deckt sich mit der Beobachtung, dass das Gesicht des Probanden rot wird. Die maximale Absorptionsänderung  $\Delta\mu_a = 0.013 \text{mm}^{-1}$  ist für die lineare Näherung, auf der die hier verwendete Methode der Tiefenauflösung beruht, zu groß. Während des Valsalva-Manövers werden auch Absorptionsänderungen im Gehirn erwartet; wahrscheinlich werden diese durch das Verletzen der Voraussetzungen für die lineare Approximation nicht richtig beschrieben.

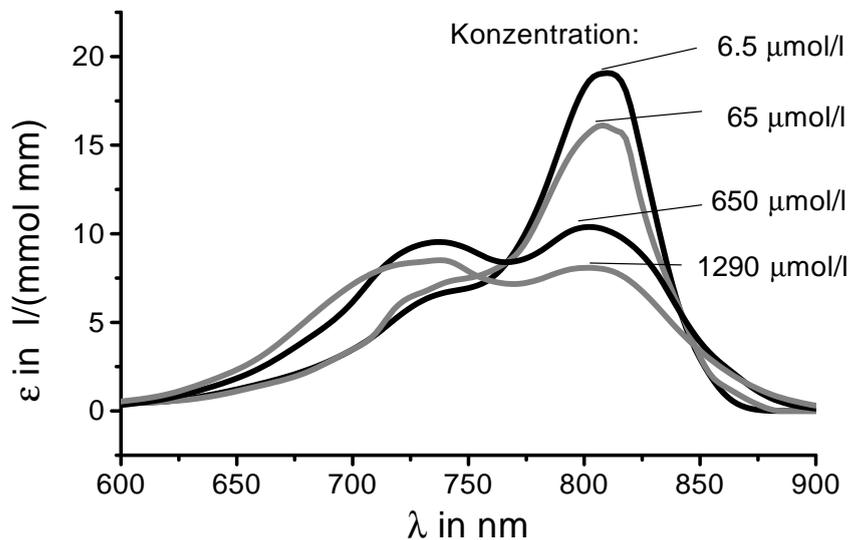
### 7.3. Kontrastmittelinjektion zur Blutflussbestimmung

Mit einem sich etablierenden Verfahren ist es mit der Magnetresonanztomographie möglich, ein Maß für die Güte des zerebralen Blutflusses zu bestimmen [13]. Hierzu wird venös das Kontrastmittel Gadolinium-DTPA rasch injiziert (Bolus) und der Zeitverlauf des Kontrastmittels im Gehirn verwendet, um einen lokalen Perfusionsfaktor zu gewinnen. Die Frage bestand, ob sich ein solcher Perfusionsfaktor auch mit optischen Methoden ermitteln lässt. Als Kontrastmittel bot sich Indocyaningrün (ICG) an. ICG wird im klinischen Alltag zur Leber- und Lungenfunktionsdiagnostik verwendet. Es ist der einzige in Deutschland für diagnostische Verfahren am Menschen zugelassene Farbstoff. Sein Absorptionsspektrum ist nichtlinear von der Konzentration im Blut abhängig (s. Abb. 7.5). Die maximale Absorption zeigt sich bei ca. 805 nm. Unterhalb von 650 nm und oberhalb von 850 nm ist die Absorption

### 7.3. Kontrastmittelinjektion zur Blutflussbestimmung

Studie:	<b>Kontrastmittelinjektion</b>
Ziel:	a) Test der Tiefenauflösung b) Sind Blutflussänderungen optisch bestimmbar?
Probanden:	3 gesunde Probanden, 9 Messtermine
Technik:	Klinischer Messplatz der PTB und Spektrometer an der Charité
Position:	willkürlich am Hinterkopf
Protokoll:	Injektion von 5 bis 10 Boli
Ergebnis:	a) Bolus kann im Gehirn tiefenaufgelöst nachgewiesen werden b) Blutflussänderung bisher nicht detektiert.

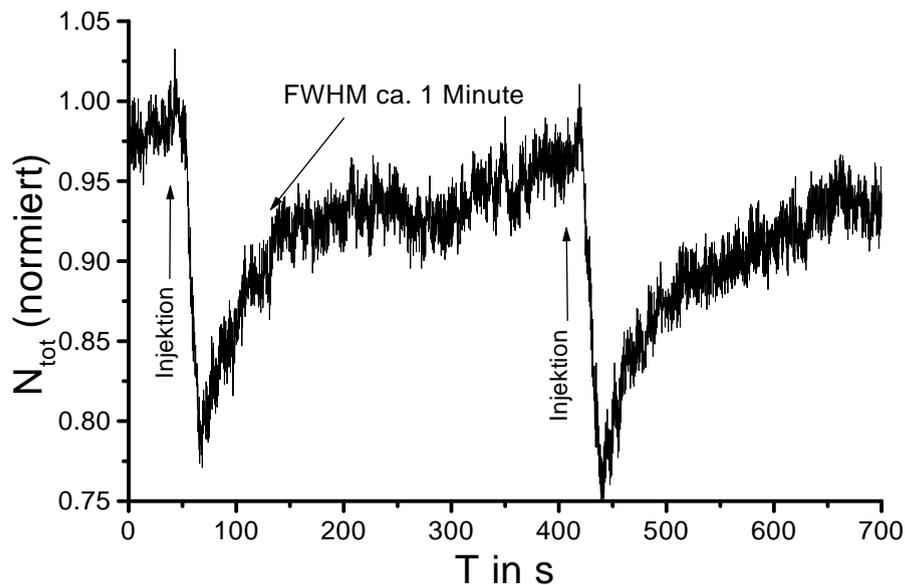
**Tab. 7.3.:** Die Details der Messung mit dem ICG-Bolus.



**Abb. 7.5.:** Das Extinktionsspektrum (molare dekadische Extinktion) von Indocyaningrün gelöst in Blut [11, 12].

## 7. *In vivo* Studien

von in Blut gelöstem ICG gering<sup>3</sup>.

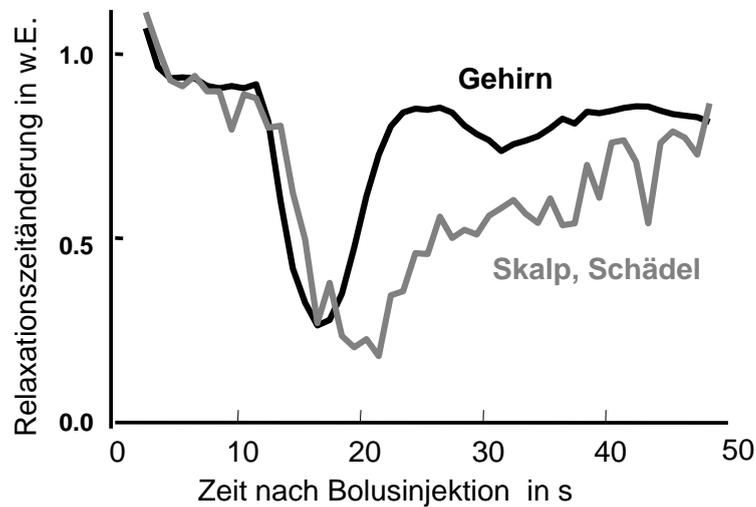


**Abb. 7.6.:** Die Änderung der Photonenzahl bei 805 nm nach venöser ICG- Injektion. Die Messung wurde mit dem spektroskopischen Messplatz an der Charité durchgeführt.

In Abbildung 7.6 ist die gemessene Änderung der normierten Photonenzahl bei 805 nm nach venöser Injektion von ICG bei einem Optodenabstand von 30 mm dargestellt. Zirka 12 s nach der Injektion ist eine Absorptionsänderung am Kopf messbar. Das Absorptionsmaximum ist nach weiteren 3 s erreicht. Die typische Verweildauer des Farbstoffes im Kopf - hier quantifiziert über die Halbwertsbreite der Änderung der Photonenzahl - beträgt zirka eine Minute. Eine typische Verweildauer des Bolus von Gd-DTPA im Gehirn dagegen nur 8 bis 12 s (FWHM). Wie kommt der Unterschied zustande? Abbildung 7.7 zeigt die Änderung der  $T_1$ -Relaxationszeit, die durch einen Bolus aus Gd-DTPA bedingt wird. Die normierte Relaxationszeitänderung ist dargestellt für den Mittelwert aus einigen intra- und einigen extrazerebralen Voxeln. Der extrazerebrale Bolus ist mit einer Halbwertsbreite von ca. 20 s breiter als der

<sup>3</sup>Für die Untersuchungen der Stabilität und der Aggregation von ICG siehe [11]. Eine interessante Internetseite zum ICG findet sich bei [12].

### 7.3. Kontrastmittelinjektion zur Blutflussbestimmung



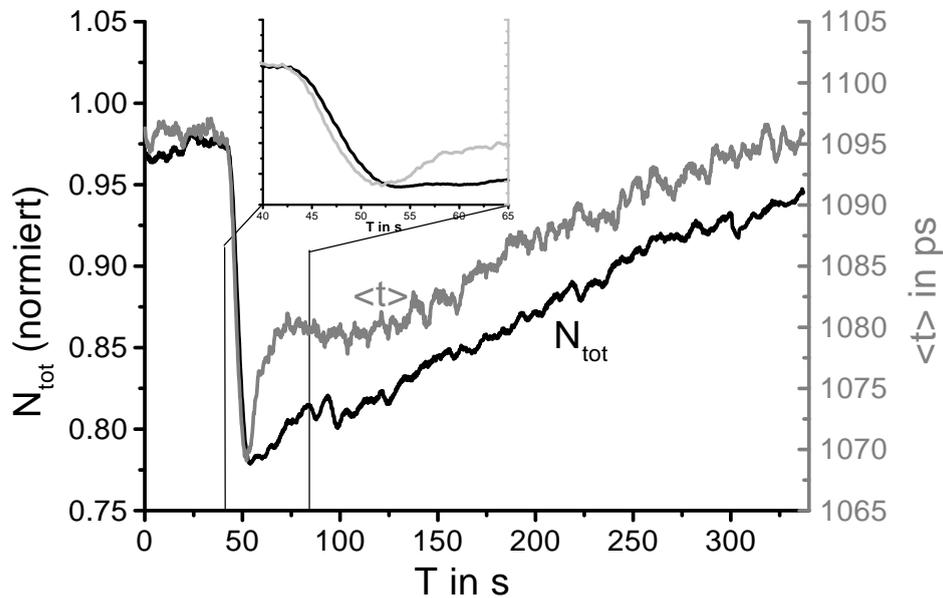
**Abb. 7.7.:** Veränderung der  $T_1$ -Kernspinrelaxationszeiten aufgrund eines Bolus aus Gd-DTPA in einigen extra- und einigen intrazerebralen Voxeln bestimmt mit der Magnetresonanztomographie.

intrazerebrale Bolus. Die Ursache hierfür ist die höhere Blutflussgeschwindigkeit im Gehirn. Aufgrund dieser hohen Geschwindigkeit ist die Verweildauer des Bolus im Gehirn kurz. Die Vermutung liegt nahe, dass die in Abbildung 7.6 gezeigte Änderung der Photonenzahl im wesentlichen durch die Absorptionsänderung in extrazerebralen Kompartimenten beeinflusst wird.

Mit einer Tiefenauflösung müssten diese störenden extrazerebralen Absorptionsänderungen von den interessierenden intrazerebralen Absorptionsänderungen trennbar sein. Um diese Hypothese zu belegen, wurden drei Probanden, an insgesamt neun Messterminen, jeweils bis zu sechs ICG-Boli intravenös injiziert. Die Messungen wurden mit dem zeitaufgelösten Messplatz der PTB an der Charité durchgeführt. Die typische Samplingzeit war 200ms.

Abbildung 7.8 zeigt die Änderung der mittleren Laufzeit und die der normierten Photonenzahl nach einer ICG-Injektion (injiziert bei  $T = 30$  s). Auch hier fällt zirka 12 s nach der Injektion die gesamte detektierte Photonenzahl um ca. 20 % ab. Die Dauer des Rückgangs zur Nulllinie liegt im Bereich mehrerer

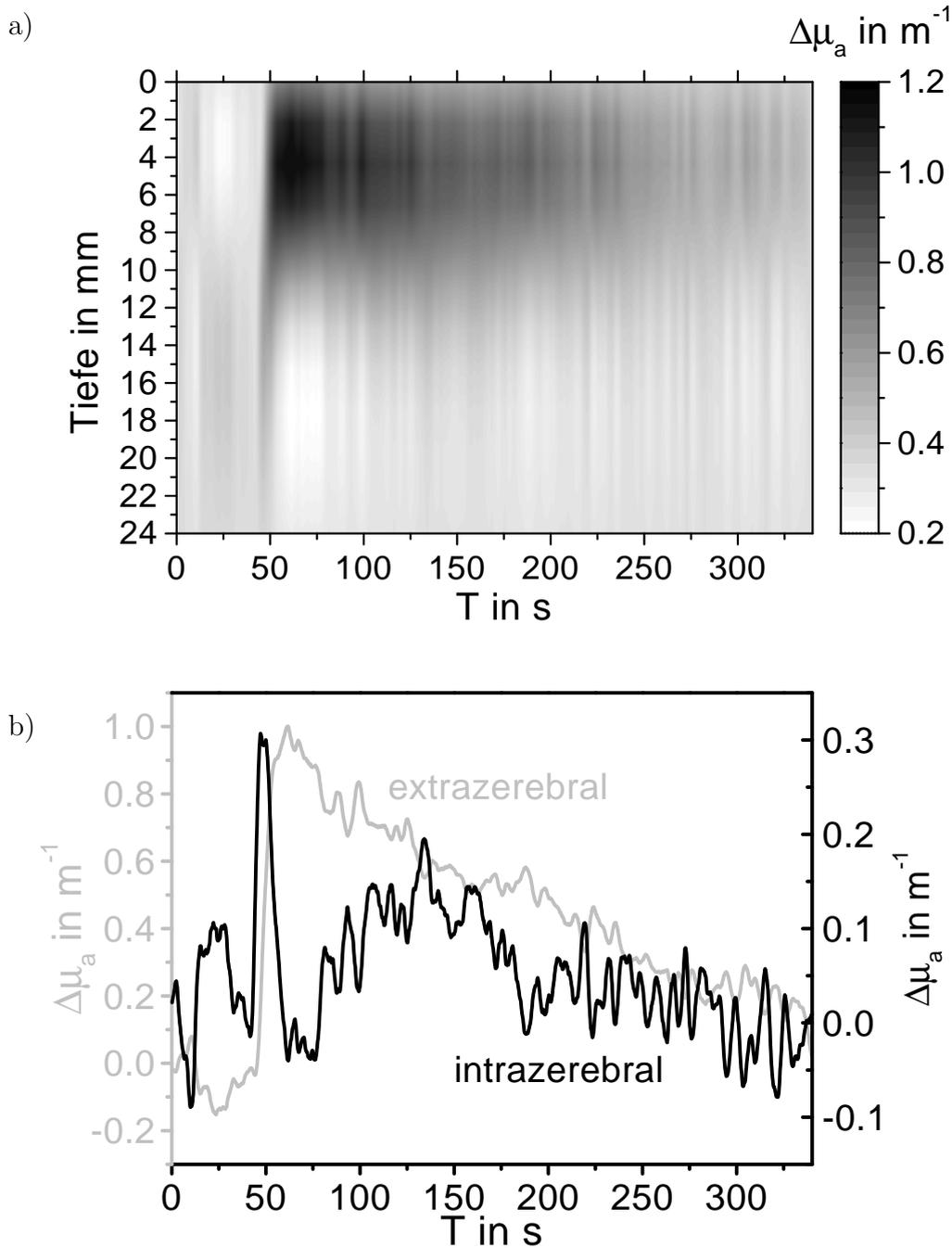
## 7. In vivo Studien



**Abb. 7.8.:** Die Änderung der mittleren Laufzeit (grau) und der normierten Photonenzahl (schwarz) nach ICG-Bolusinjektion (bei 30s) bei 780 nm. Die Daten wurden mit einer Samplingfrequenz von 5Hz aufgenommen und mit einem gleitenden Mittel über 10 Datenpunkte geglättet. Das kleine Bild zeigt einen zeitlichen Ausschnitt.

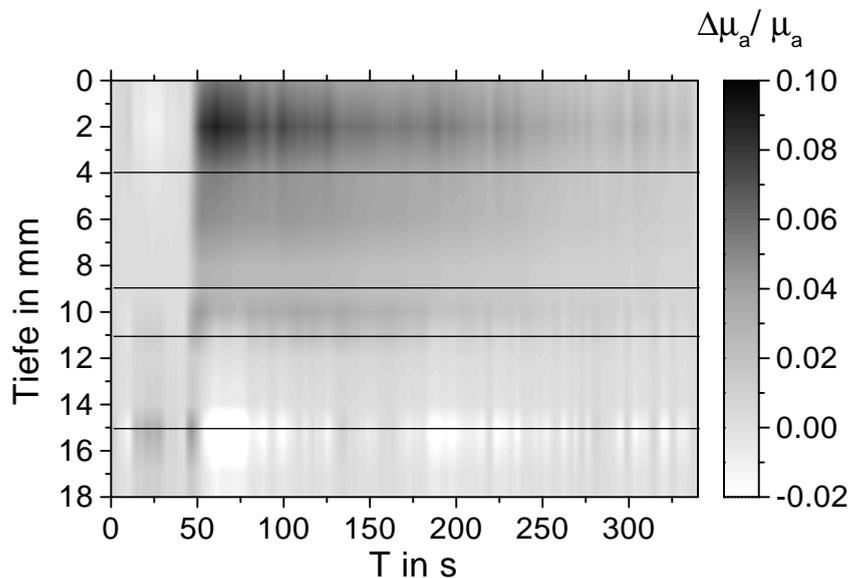
Minuten. Die Änderung der mittleren Laufzeit hingegen hat steilere Flanken. Dies kann interpretiert werden: Die mittlere Laufzeit ist sensitiver auf die Absorptionsänderungen in den intrazerebralen Kompartimenten (s. Kapitel 4) und ist somit auch sensitiver gegenüber dem nur kurz im Gehirn verweilenden Bolus. Der Ausschnitt in Abbildung 7.8 zeigt, dass die Änderung der mittleren Laufzeit vor der Änderung der gesamten Photonenzahl stattfindet. Da zu jedem Datenpunkt in Abbildung 7.8 eine Laufzeitverteilung vorliegt, kann der Algorithmus zur Tiefenauflösung angewendet werden. Es wurde zur Auswertung vorerst das homogene Modell aus Kapitel 4 ( $\mu'_s = 1 \text{ mm}^{-1}$  und  $\mu_a = 0.01 \text{ mm}^{-1}$ ) mit 15 Schichten verwendet, um den Bolus in der Tiefe zu lokalisieren. Vor der Hauptwertzerlegung wurden 2000 Laufzeitverteilungen mit der in Abschnitt 9.3 beschriebenen Routine entfaltet. Um ein messzeitunabhängiges  $\chi^2(T)$  zu erhalten, mussten zwei Hauptwerte verwendet werden. Das Ergebnis ist in Abbildung 7.9 a) in einer grau skalierten Darstellung wiedergegeben. In der Tiefe des Kopfes (tiefer als 8 mm) besitzt der Bolus eine

### 7.3. Kontrastmittelinjektion zur Blutflussbestimmung



**Abb. 7.9.:** a) Mit dem Verfahren zur Tiefenauflösung ermittelte Absorptionsänderung nach einer ICG-Injektion. Nur in der Tiefe des Kopfgewebes ist die kurze Absorptionsänderung durch den Bolus zu erkennen. b) Die Absorptionsänderung in einem extrazerebralen (0 bis 6 mm) und einem intrazerebralen Kompartiment (8 bis 14 mm).

## 7. *In vivo* Studien



**Abb. 7.10.:** Die tiefenaufgelöste relative Absorptionsänderung bei Verwendung eines inhomogenen Modells. Die oberste Schicht entspricht dem Skalp, gefolgt von dem Knochen dem Liquorraum, der grauen und der weißen Substanz.

sehr kurze Verweildauer, während er die oberen Schichten nur sehr langsam wieder verlässt.

Um diesen Effekt besser darzustellen, wurde in Abbildung 7.9 a) ein extrazerebrales (0 bis 6 mm) und ein intrazerebrales Kompartiment (8 bis 14 mm) definiert. In diesem Kompartiment wurde die Absorptionsänderung über jeweils drei Schichten gemittelt. Das Ergebnis ist in Abbildung 7.9 b) zu sehen. Man erkennt eine schnell ansteigende und schnell abfallende Absorptionsänderung im intrazerebralen Kompartiment. Bei ca. 130 s ist ein zweites Maximum, wahrscheinlich der zweite Durchgang des Farbstoffbolus nach einer erheblichen Verbreiterung im Blutkreislauf, zu sehen. Die Absorptionsänderung im extrazerebralen Kompartiment beginnt ca. 3 s später als im intrazerebralen Kompartiment. Vergleicht man dieses Ergebnis mit der Injektion von Gd-DTPA im MRT<sup>4</sup>, so kann man zumindest eine qualitati-

<sup>4</sup>Der Vergleich ist nur sehr grob möglich, da keine simultanen Messungen durchgeführt wurden.

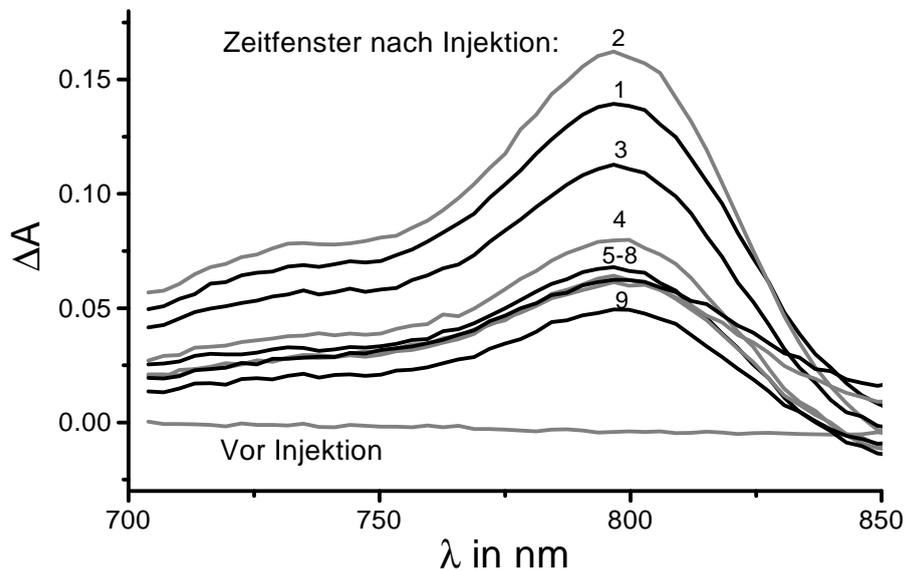
### 7.3. Kontrastmittelinjektion zur Blutflussbestimmung

ve Übereinstimmung der Halbwertsbreite der intrazerebralen Boli feststellen (12s mit ICG, 8s mit Gd-DTPA im MRT). Im extrazerebralen Kompartiment ist der Unterschied für die Verweildauer der beiden Kontrastmittel jedoch groß: Die Halbwertsbreite beträgt eine oder mehrere Minuten mit ICG, und nur ca. 20s mit Gadolinium im MRT. Über die Ursache lässt sich nur spekulieren. Für beide Kontrastmittel sind die Messgrößen nichtlinear von der Konzentration des Kontrastmittel abhängig. Somit ist ein quantitativer Vergleich der Messkurven schwierig.

Was ändert sich, wenn statt dessen homogenen Modells ein inhomogenes Kopfmodell verwendet wird? In Abbildung 7.10 ist das Ergebnis der Methode zur Tiefauflösung angegeben, wenn zur Modellierung die optischen Eigenschaften aus Tabelle 5.2 für 780 nm verwendet werden. Zur besseren Visualisierung sind relative Absorptionsänderungen angegeben. Der schnell fließende intrazerebrale Bolus ist im Liquorraum und in der grauen Substanz lokalisierbar. Wird wieder die Absorptionsänderung in einem extra- (Skalp) und einem intrazerebrale (Liquorraum, graue Substanz) Kompartiment betrachtet ergibt sich ein ähnliches Ergebnis wie in Abbildung 7.9 b). Somit ist derzeit der einzige Vorteil des inhomogenen Modells darin zu sehen, dass das intra- und extrazerebrale Kompartiment nicht wie in Abbildung 7.9 willkürlich definiert wird.

Es stellte sich noch die Frage nach der Wellenlängenabhängigkeit der Attenuation von ICG bei Messungen am Kopf. Dem Probanden wurden typischerweise 3 mg ICG gelöst in 5 ml Kochsalzlösung injiziert. Die typische Injektionsdauer betrug ein bis zwei Sekunden. Somit vermischt sich der Farbstoff im Herz und in der Lunge mit zirka zwei Herzschlagvolumen (zirka 2 mal 70 ml). Die Konzentration des ICGs im Blut des Kopfes ist also ungefähr  $30 \mu\text{mol/l}$ . In Abbildung 7.11 ist die Änderung der Attenuation spektral aufgelöst in verschiedenen Zeitfenstern nach ICG Injektion dargestellt. Man erkennt das Extinktionsspektrum von ICG für geringe Konzentrationen aus 7.5 strukturell wieder.

## 7. *In vivo* Studien



**Abb. 7.11.:** Die Veränderung der spektral aufgelösten Attenuation in sukzessiven Zeitfenstern von 25 s Breite nach der ICG-Injektion.

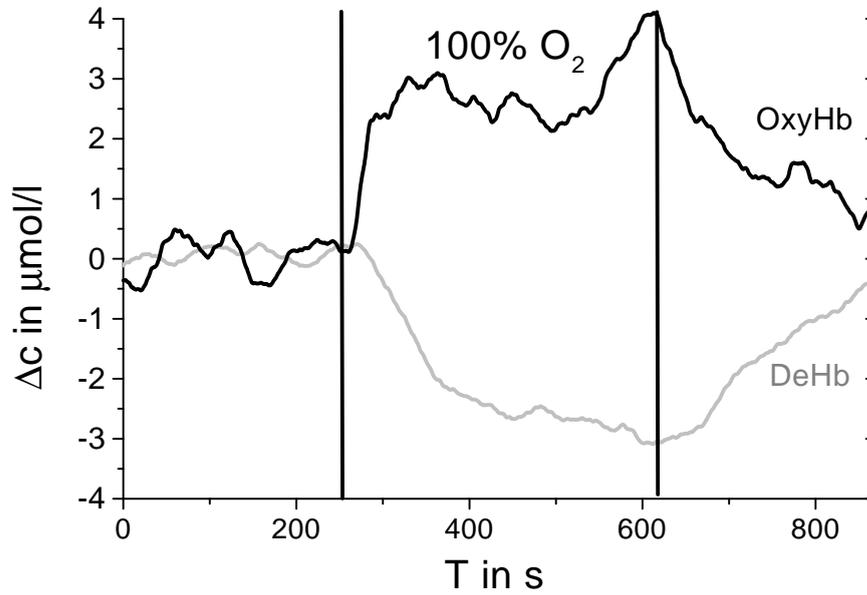
### 7.4. Hyperoxygenierung

Für ein Hyperoxygenierungsexperiment wurde dem Probanden für 6 Minuten mit einer Atemmaske ein Atemgas mit 100 % Sauerstoff zugeführt. Dies führt zu einer Erhöhung der arteriellen Sauerstoffsättigung. Weiterhin wird sich, durch die Verfünfachung des Sauerstoffpartialdruckes in den Lungenbläschen, die Konzentration des gelösten Sauerstoffes ebenfalls drastisch erhöhen.

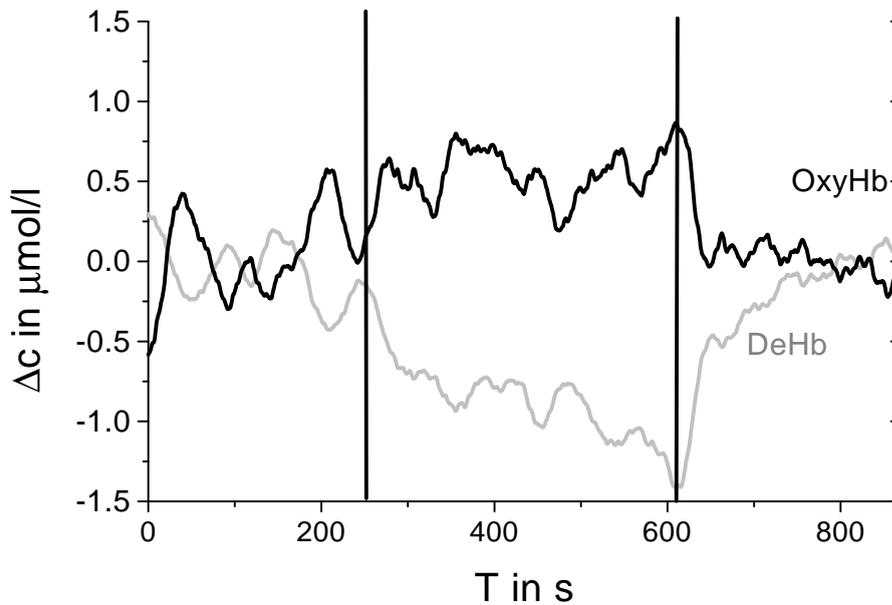
Der Proband lag während der Messung auf einer Untersuchungsfläche. Weitere Details der Studie und der Auswertung können der Tabelle 7.4 entnommen werden.

Für die Auswertung wurde das 15-schichtige homogene Modell aus Kapitel 4 verwendet. Wie in Abschnitt 7.3 wurde ein extra- und ein intrazerebrales Kompartiment gebildet. Aus den Absorptionsänderungen in den beiden Kompartimenten, bei den drei Wellenlängen des klinischen Messplatzes, werden die Änderungen der Oxy- und Desoxyhämoglobinkonzentration berechnet. Diese sind in Abbildung 7.12 dargestellt.

a)



b)



**Abb. 7.12.:** Die Änderung der Oxy- und Desoxyhämoglobin-Konzentration bei einer Änderung des Sauerstoffanteils im Atemgas auf 100 % im a) extra- und im b) intrazerebralen Kompartiment.

## 7. *In vivo* Studien

Studie:	<b>Hyperoxygenierung</b>
Ziel:	Der Algorithmus zur Trennung der extrazerebralen und intrazerebralen NIRS-Signale wird getestet. Wie verhält sich die Hämoglobinkonzentration nach einem Sauerstoffbolus?
Probanden:	1 gesunder erwachsene Proband
Technik:	Klinischer Messplatz der PTB
Optode:	willkürlich am Hinterkopf
Protokoll:	260s Ruhe, 360s 100% O <sub>2</sub> , 280s Ruhe
Auswertung:	homogenes Modell mit 15 Schichten aus Kapitel 4 Hauptwertzerlegung (SVD) mit 3 Hauptwerten Hämoglobinspektren aus [8]
Ergebnis:	Intrazerebral ergibt sich eine raschere Konzentrationsänderung von Oxy- und Desoxyhämoglobin als extrazerebral.

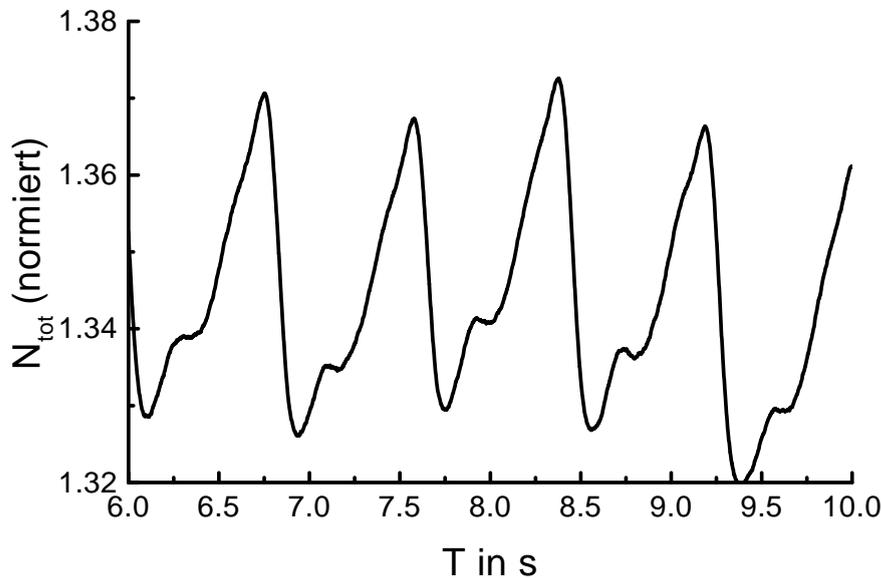
**Tab. 7.4.:** Die Details der Studie zur Hyperoxygenierung.

Abbildung 7.12 a) zeigt die Änderung der Hämoglobin-Konzentration in dem extra- und Abbildung 7.12 b) in dem intrazerebralen Kompartiment. Die intrazerebralen Konzentrationsänderungen verlaufen rascher als die extrazerebralen. Dies ist, wie bereits beim ICG-Bolus, durch die höhere Blutfluss-geschwindigkeit im Gehirn erklärbar. Diese Daten zeigen, dass die Methode zur Tiefauflösung von Absorptionsänderungen auch bei der Änderung der Hämoglobinkonzentrationen im Gehirn zu einem sinnvollen Ergebnis führt.

### 7.5. Pulsoxymetrie am Gehirn?

Die Funktionsweise der Pulsoxymetrie wurde bereits in Abschnitt 6.4 behandelt. In diesem Abschnitt soll die Frage beantwortet werden, inwiefern mit der hier beschriebenen Methode der Tiefenauflösung eine getrennte Pulsoxymetrie der extra- und intrazerebralen Kompartimente möglich ist. Vorweg sei gesagt, dass die Pulsoxymetrie mit der Methode der Tiefenauflösung am schlechten Signal-zu-Rausch-Verhältniss scheiterte. Ein möglicher Ausweg

aus diesem Problem wird angegeben.

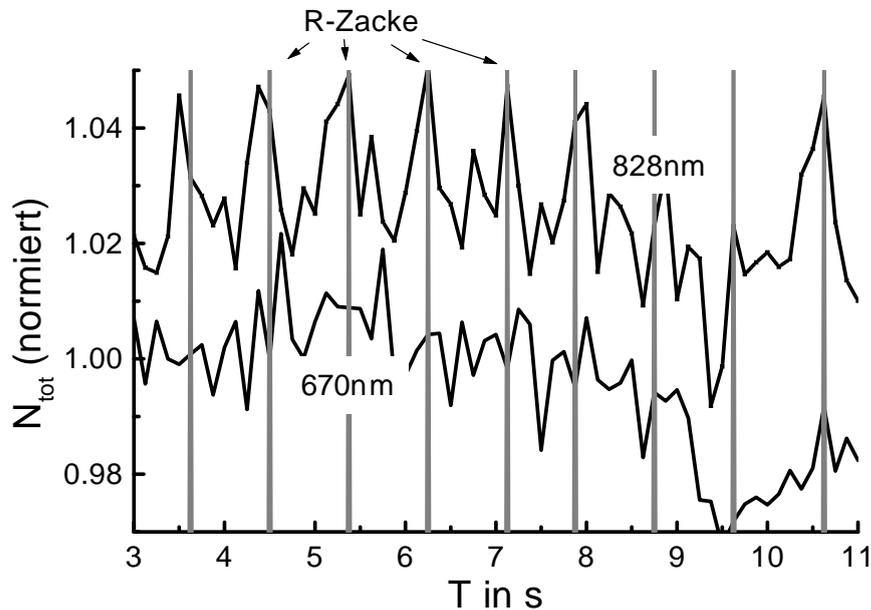


**Abb. 7.13.:** Die pulsatile Änderung der gesamten Photonenzahl gemessen am Kopf mit einem einfachen NIRS-Aufbau, mit dem ein niedriges Photonenrauschen erzielt wurde.

In Abbildung 7.13 ist die am Kopf eines Probanden gemessene Reflexion (Samplingzeit 1 ms mit einem gleitenden Mittel über 120 ms geglättet) dargestellt. Die in den Kopf eingekoppelten Photonen entstammten einer cw-Halogenlampe, deren Strahlung durch zwei Kantenfilter auf den Bereich von 650 bis 850 nm eingeschränkt wird. Die in das Faserbündel (Durchmesser 5 mm) eingekoppelte Leistung war ca. 200 mW<sup>5</sup>. Als Detektor wurde der PMT R5600U verwendet (s. Abschnitt 3.1.2). Die Signalverarbeitung besteht in einer Strom-Spannungswandlung des Multiplierstroms und eine A/D-Wandlung. Wieso dieses Vorexperiment? Die in Abbildung 7.13 dargestellte Intensitätsänderung von zirka drei Prozent zeigt wie gut reproduzierbar und rauscharm die pulsatile Absorptionsänderung detektierbar ist, wenn das Photonenrauschen gering ist. Abbildung 7.14 zeigt die Intensitätsänderung, detektiert mit dem klinischen zeitaufgelösten Messplatz bei 828 nm und

<sup>5</sup>Wäre die Strahlung durch induzierte Emission entstanden, hätte die Laserschutzverordnung gegriffen und ein solches Experiment wäre am Menschen nicht zulässig gewesen.

## 7. In vivo Studien



**Abb. 7.14.:** Die pulsatile Änderung der normierten Photonenzahl gemessen mit dem zeitaufgelösten klinischen Messplatz bei 828 und 670 nm. Ebenfalls dargestellt ist das Signal eines Elektrokardiogrammes, das das Auftreten der R-Zacke kennzeichnet.

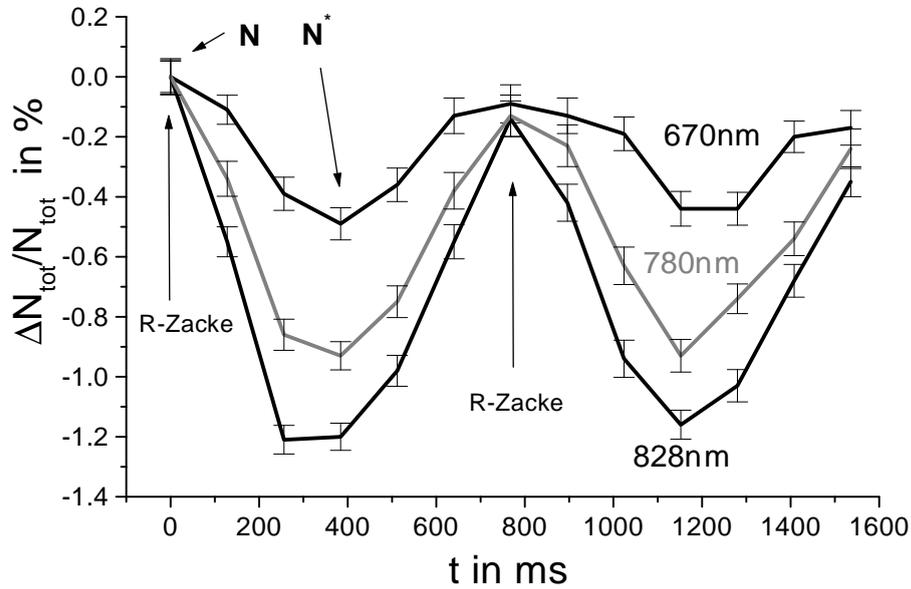
670 nm. Hier ist die pulsatile Intensitätsänderung sehr verrauscht. Der Unterschied zwischen Abbildung 7.13 und 7.14 ist nur durch das unterschiedliche Photonenrauschen<sup>6</sup> der beiden Methoden erklärbar. Mit dem klinischen Messplatz werden in 120ms zirka 20000 Photonen bei jeder Wellenlänge gezählt. Hiermit ergibt sich eine relative Standardabweichung der gesamten detektierten Photonenzahl von ungefähr einem Prozent.

Dieses Photonenrauschen könnte reduziert werden, indem jede Wellenlänge des klinischen Messplatzes mit einem eigenen Detektor und mit einem zugehörigen PC-Einsteckkarte zur Einzelphotonenzählung detektiert würde. Hierdurch ist die Zählrate auf 100000 pro 100 ms steigerbar. Das relative Standardabweichung der gesamten Photonenzahl würde sich dann auf 0.3% reduzieren.

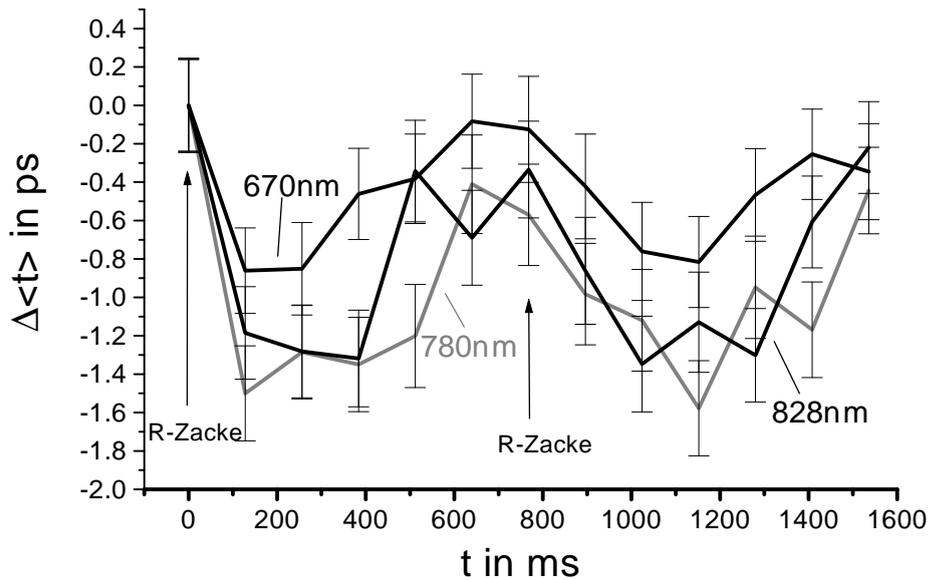
Weiterhin sind in Abbildung 7.14 Impulse eines Elektrokardiogramms darge-

<sup>6</sup>Wenn in dieser Arbeit von Photonenrauschen gesprochen wird, ist die Standardabweichung der Photonenzahl wie in (2.5) definiert, gemeint.

a)

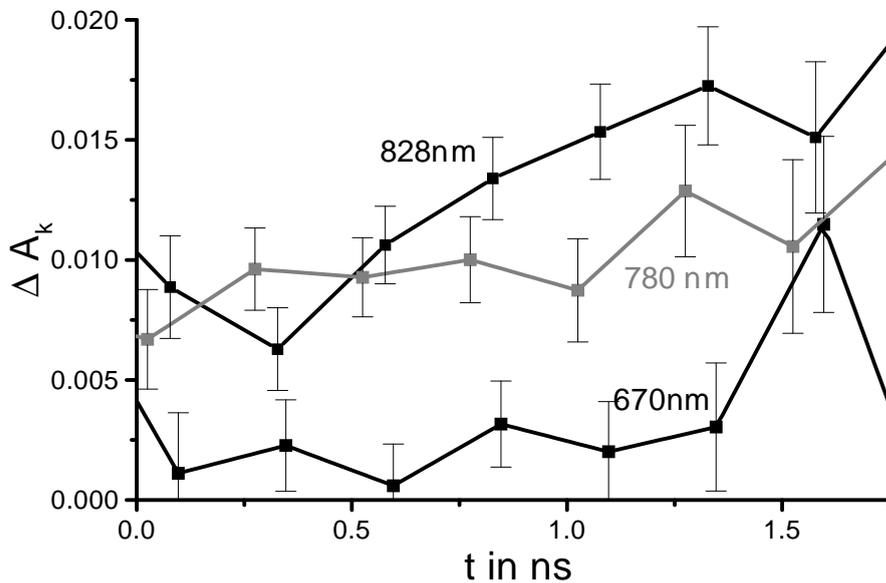


b)



**Abb. 7.15.:** Die Änderung der Photonenzahl a) und der mittleren Laufzeit b) nach einer ereignisbezogenen Mittelung auf die R-Zacke. Die Daten wurden mit dem klinischen zeitaufgelösten Messplatz aufgenommen. Die gesamte Messzeit betrug drei Minuten.

## 7. In vivo Studien

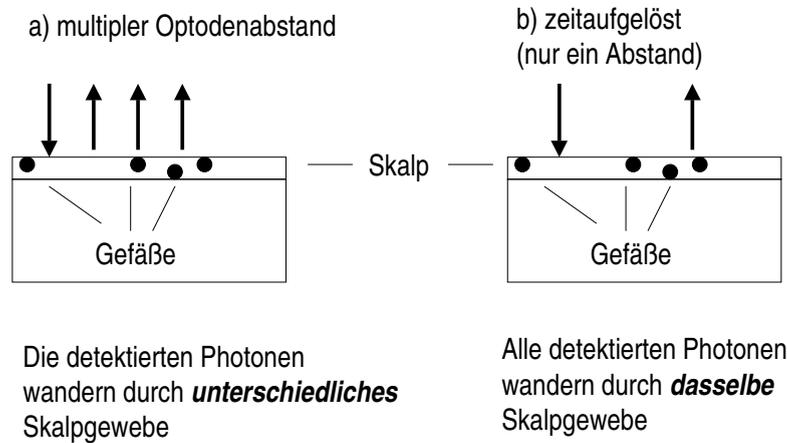


**Abb. 7.16.:** Die zeitabhängige Attenuation berechnet zu den in Abbildung 7.15 a) eingezeichneten Zeitpunkten für die drei Wellenlängen des zeitaufgelösten Messplatzes.

stellt, die zeitgleich mit der R-Zacke auftreten. Durch ein ereignisbezogenes Mitteln auf diese Impulse kann das Signalrauschen ebenfalls reduziert werden. Abbildung 7.15 a) zeigt die so gemittelte Intensität für die drei Wellenlängen des zeitaufgelösten klinischen Messplatzes. Abbildung 7.15 b) ist für dieselbe Mittelung die mittlere Laufzeit der Photonen dargestellt. Die angegebenen Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung des Mittelwertes, der sich beim Ereignisbezogenen Mitteln auf die R-Zacke berechnen lässt.

Wie bei den anderen Beispielen in diesem Kapitel, können die zu zwei Zeitpunkten gemessenen Laufzeitverteilungen  $N^*$  und  $N$  (s. Abb. 7.15 a) ) verwendet werden, um die zeitabhängige Attenuation zu bestimmen. Diese ist in Abbildung 7.16 dargestellt<sup>7</sup>. Das derzeitige Problem und die potentielle Möglichkeit einer Pulsoxymetrie am Kopf werden deutlich. Vergleicht man diese zeitabhängige Attenuation mit der in Abbildung 7.3, so fällt das schlech-

<sup>7</sup>Die angegebenen Fehlerbalken entsprechen den nach Gleichung 2.5 berechneten Standardabweichung.



**Abb. 7.17.:** Skizze zum Problem der Heterogenität der Mikrostruktur des Skalp für NIRS Messungen mit multiplen Abständen.

te Signal-zu-Rausch-Verhältnis auf. Es ist aufgrund der zu geringen Photonenanzahl zu klein, um derzeit eine Pulsoxymetrie zu realisieren. Allerdings deutet die Veränderung der zeitabhängigen Attenuation darauf hin, dass pulsatile Absorptionsänderungen im Skalp und im Gehirn prinzipiell unterscheidbar sind.

## 7.6. Vorteil der zeitaufgelösten Messtechnik gegenüber einer Messung mit multiplen Abständen

Wie in Kapitel 4 dargestellt, kann mit einer cw-Messtechnik bei mehreren Optodenabständen eine Tiefauflösung von Absorptionsänderungen realisiert werden. Trotzdem wurde ein zeitaufgelöstes Messverfahren verwendet, wieso?

Für Messungen bei multiplen Optodenabständen am Kopf ist die heterogene Mikrostruktur des Skalp ein störender Faktor. Abbildung 7.17 illustriert das Problem, das sich ergibt, wenn sich eine Detektionsoptode, z.B. bei einem kurzen Optodenabstand über einem großen Gefäß befindet und

## 7. *In vivo* Studien

eine andere Optode nicht. Die erste Optode wird Absorptionsänderungen im Skalp, die zweite im Skalp und im Gehirngewebe messen. Wenn im Skalp eine Blutvolumen- oder Oxygenierungsänderung stattfindet, ändern sich wegen der unterschiedlichen Gefäßstruktur unter den Optoden die an den beiden Optodenpositionen gemessene Intensität. Aus diesen beiden unterschiedlichen Intensitätsänderungen wird man möglicherweise auf eine vaskuläre Antwort im Gehirn schließen, die es gar nicht gab.

### 7.7. Zusammenfassung

Die Tiefenauflösung von Absorptionsänderungen aus am Kopf gemessenen Laufzeitverteilungen führt zu physiologisch sinnvollen Ergebnissen. Es gibt diverse Situationen, z.B. bei Injektion eines Kontrastmittels, bei denen eine Datenanalyse ohne Tiefenauflösung zu einem falschen Ergebnis führt. Zwei Möglichkeiten für klinische Anwendungen wurden in diesem Kapitel aufgezeigt, die zumindest eine Fortsetzung der Forschung rechtfertigen: Die intrazerebrale Pulsoxymetrie und die Bestimmung des Zeitverlaufs des Absorptionskoeffizienten nach einer Injektion eines Kontrastmittels zur Abschätzung der Güte des intrazerebralen Blutflusses.

### 7.8. Literatur

- [1] A. Villringer, J. Planck, C. Hock, L. Schleinkofer und U. Dirnagl. Near infrared spectroscopy (NIRS): a new tool to study hemodynamic changes during activation of brain function in human adults. *Neurosci. Lett.*, **154**:101–104, 1993.
- [2] A. Villringer und B. Chance. Non-invasive optical spectroscopy and imaging of human brain function. *TINS*, **20**(10):435–442, 1997.
- [3] H. Obrig, C. Hirth, J. G. Junge-Hülsing, C. Döge, T. Wolf, U. Dirnagl und A. Villringer. Cerebral oxygenation changes in response to motor stimulation. *J. Appl. Physiol.*, **81**(3):1174–1183, 1996.
- [4] H. Obrig, R. Wenzel, M. Kohl, S. Horst, P. Wobst, J. Steinbrink, F. Thomas und A. Villringer. Near infrared spectroscopy: Does it function in

- functional activation studies of the adult brain? *Int. J. Psychophysiol.*, **35**(2-3):125–142, 2000.
- [5] R. B. Buxton, E. C. Wong und L. R. Frank. Dynamics of blood flow and oxygenation changes during brain activation: The balloon model. *Magn. Reson. Med.*, **39**(6):855–864, 1998.
- [6] P. C. van Zijl, S. M. Eleff, J. A. Ulatowski, J. M. Oja, A. M. Ulug, R. J. Traystman und R.A. Kauppinen. Quantitative assessment of blood flow, blood volume and blood oxygenation effects in functional magnetic resonance imaging. *Nat. Med.*, **4**(2):159–167, 1998.
- [7] M. Kohl, C. Nolte, H. R. Heekeren, S. Horst, U. Scholz, H. Obrig und A. Villringer. Determination of the wavelength dependence of the differential pathlength factor from near-infrared pulse signals. *Phys. Med. Biol.*, **43**:1771–1782, 1998.
- [8] S. Wray, M. Cope, D.T. Delpy, J. S. Wyatt, E. Osmund und R. Reynolds. Characterization of the near infrared absorption spectra of cytochrome *aa<sub>3</sub>* and haemoglobin for the non-invasive monitoring of cerebral oxygenation. *Biochim. Biophys. Acta*, **933**(1):184–192, 1988.
- [9] F. Thomas, R. Wenzel, J. Steinbrink, H. Obrig, M. Kohl, U. Scholz und A. Villringer. Nonlinear traits in the cerebral oxygenation response to short visual stimuli. In *Proceedings of the 27th Annual Meeting of the International Society on Oxygen Transport to Tissue*, 1999.
- [10] F. Thomas. *Charakterisierung des nicht-linearen Verhaltens der Neurovaskulärenkopplung*. Dissertation, Humboldt Universität zu Berlin, in Vorbereitung, 2000.
- [11] M. L. J. Landsman, G. Kwant, G. A. Mook und W. G. Zijlstra. Light-absorbing properties, stability, and spectral stabilization of indocyanine green. *J. Appl. Physiol.*, **40**(4):575–583, 1976.
- [12] S. Prahl. Optical absorption of indocyanine green (ICG). <http://omlc.ogi.edu/spectra/icg/index.html>.
- [13] K. Poeck und W. Hacke. *Neurologie*. Springer Verlag, 1998.

